

Modele doświadczalne, choć spełniają nieocenioną rolę w badaniach nad udarem mózgu, przybliżają tylko pewne jego aspekty. Są jednak jedyną metodą pozwalającą na poszerzenie naszej wiedzy o patofizjologii udaru, szczególnie na poziomie molekularnym. Są także obligatoryjnym etapem wszelkich badań przedklinicznych dotyczących nowych strategii leczenia udaru.

Udar niedokrwienny

Modele *in vitro*

W porównaniu z metodami *in vivo* wymagają mniejszych nakładów finansowych i są mniej czasochłonne. Nie pozwalają jednak na dokładną analizę interakcji zachodzących pomiędzy komórkami różnych typów, chociażby nacieku zapalnego, czy znaczenia krążenia obocznego. Eliminowana jest obecność bariery krew–mózg i jej rola w rozprzestrzenianiu się substancji neuroprotektoryjnych bądź neurotoksycznych. Z oczywistych względów nie jest także możliwa ocena wpływu potencjalnych leków na funkcje poznawcze czy zachowanie się organizmu. Niemniej modele te odgrywają istotną rolę w badaniach nad molekularnymi mechanizmami neurodegeneracji i neuroprotekcji, zwłaszcza w szczegółowych analizach szlaków przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowego (przeł. Campbell, Hunter, 1999).

Hodowle komórkowe

Najczęściej używane są hodowle pierwotne komórek nerwowych uzyskiwanych z kory mózgowej, hipokampa lub mózdzku szczurów bądź myszy. Do badań nad komórkami gąbczastymi wykorzystywane są także hodowle astrocytów, mikrogleju albo oligodendrocytów, zwykle hodowle czyste, znacznie rzadziej mieszane. Jako bodźca uszkadzającego, mającego pełnić rolę niedo-

krwienia, najczęściej używa się pozbawienia tlenu albo tlenu i glukozy (OGD, ang. *Oxygen-Glucose Deprivation*) (Goldberg, Choi, 1993). Innymi stosowanymi bodźcami o znanym działaniu neurotoksycznym są m.in.: agoniści receptorów glutaminergicznych, trucizny metaboliczne (np. cyjanek potasu, azydek sodu), pozbawienie komórek czynników troficznych. Do oceny wpływu substancji toksycznych bądź potencjalnie neuroprotektoryjnych wykorzystuje się pomiar wychwyty przez żywe komórki takich substancji, jak: MTT (3-[4,5-dimetylotiazol-1-yl]-2,5-difenylo-tetrazol) lub FDA (diocetan fluoresceiny). Inną metodą jest ocena barwienia martwych komórek przez błękit trypanowy (komórki żywe aktywnie usuwają barwnik). Można także mierzyć stężenie w pożywce cytoplazmatycznego enzymu LDH (dehydrogenazy mleczanowej) uwalnianego z komórek po uszkodzeniu błony komórkowej.

Skrawki mózgowe

Skrawki przygotowywane są zwykle z hipokampów myszy i szczurów. Dzięki obecności wszystkich składowych tkanki nerwowej użycie skrawków nie eliminuje całkowicie wpływu interakcji międzykomórkowych (Dong i wsp., 1988). Oprócz oceny histologicznej i biochemicznej aktywności komórek możliwe jest przeprowadzenie pomiarów czynności elektrofizjologicznej w wybranych grupach komórek. Należy jednak pamiętać, że samo przygotowanie skrawków wiąże się z narażeniem na stres przypominający niedokrwienie, gdyż nieodzownym etapem jest uraz mózgu i jego niedotlenienie.

Modele *in vivo*

Choć modele zwierzęce dają znacznie lepszy wgląd w patofizjologię niedokrwienia mózgu niż modele *in vitro*, również muszą być traktowane jako jedynie pewne przybliżenie udaru. W modelach *in vivo* obecna jest

bariera krew-mózg, zachowane są interakcje między poszczególnymi składowymi tkanki nerwowej, możliwa jest też analiza udziału elementów spoza układu nerwowego, takich jak komórek nacieku zapalnego czy komórek naczyń krwionośnych. Opracowano modele niedokrwienia dla wielu gatunków zwierząt. Najczęściej badania prowadzone są na gryzoniach – myszokoczkach, szczurach i myszach. Wynika to m.in. ze względów ekonomicznych – relatywnie tanie jest prowadzenie doświadczeń na licznych grupach zwierząt, co jest szczególnie istotne dla rzetelnej oceny skuteczności potencjalnych środków neuroprotektoryjnych. Co także istotne, można posługiwać się zwierzętami transgenicznymi (przede wszystkim myszami). Pozwala to analizować m.in. wpływ na niedokrwienie mózgu wyłączenia jakiegoś genu albo wręcz przeciwnie – zwiększonej jego ekspresji (w całym organizmie bądź tylko w określonym typie komórek, np. astrocytach). Natomiast używanie różnych szczepów zwierząt (np. szczurów SHR i SPSHR, odpowiednio ang. *Spontaneously Hypertensive Rats* i *Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats*) ujawniło, że podatność na udar mózgu i wrażliwość tkanki nerwowej na niedokrwienie może mieć podłoże genetyczne (Connolly i wsp., 1996; Nabika i wsp., 2004; Prieto i wsp., 2005).

Obok gryzoni wykorzystywane są także (choć rzadziej) modele niedokrwienia mózgu u psów, kotów, świń, małp, także naczelników.

Ogólnie rzecz biorąc, modele *in vivo* można podzielić na dwie duże grupy: niedokrwienia globalnego i ogniskowego. W obu przypadkach możliwa jest ocena skutków niedokrwienia mózgowia zarówno na poziomie anatomopatologicznym, jak i behawioralnym (przeł. Campbell, Hunter, 1999; Traystman, 2003).

Niedokrwienie globalne

Brak przepływu mózgowego jest krótkotrwały i w zasadzie naśladuje zatrzymanie krążenia. Prowadzi to do opóźnionej (o kilka-kilkanaście dni) śmierci komórek. Szczególnie wrażliwe na ten typ niedokrwienia są neurony hipokampa i prążkowiec. Histologiczna ocena stopnia spowodowanego uszkodzenia polega zasadniczo na zliczaniu nieuszkodzonych neuronów w określonych obszarach hipokampa. Ten typ niedokrwienia jest wykorzystywany zasadniczo w doświadczeniach z udziałem gryzoni.

Zatrzymanie czynności serca

Poprzez ucisk dużych pni tętniczych i żylnych, wychodzących i wchodzących do jam serca (narzędzie wprowadzane do klatki piersiowej), o tylną powierzchnię mostka, możliwe jest zatrzymanie czynności serca, a przy dłuż-

szym ucisku, także oddychania. Do przywrócenia czynności życiowych zwierzęcia konieczna jest reanimacja krążeniowo-oddechowa. Straty zwierząt spowodowane śmiercią są w tym modelu wysokie (Korpachev i wsp., 1982; Mossakowski i wsp., 1986).

Inną metodą jest szybki wlew zimnego (4°C) roztworu KCl do żyły szyjnej, co powoduje spadek ciśnienia tętniczego krwi. Również i tu przywrócenie krążenia jest możliwe tylko po zabiegach reanimacyjnych (Kofler i wsp., 2004).

Niedokrwienie przodomózgowia u myszokoczków

Całkowite niedokrwienie przodomózgowia w wyniku zamknięcia obu tętnic szyjnych jest możliwe dzięki temu, że u myszokoczków nie ma w pełni wykształconego koła tętniczego Willisa – brak jest połączenia pomiędzy przednim i tylnym obszarem unaczynienia. Jednak dość duża zmienność osobnicza (pomiędzy szczepami, a nawet w obrębie tego samego szczepu) w zakresie unaczynienia mózgu powoduje czasem znaczny rozrzut wyników, co utrudnia interpretację uzyskanych danych (Laidley i wsp., 2005). Szczególne znaczenie ma to w przypadku badań na substancjami potencjalnie neuroprotektoryjnymi. W dodatku, z powodu małych rozmiarów zwierząt, trudna jest – ze względów technicznych – kaniulacja naczyń krwionośnych. Brak zaś dostępu do naczyń obwodowych uniemożliwia podawanie testowanych substancji czy monitorowanie parametrów życiowych, takich jak np.: ciśnienie tętnicze krwi, pH krwi, pO_2 , pCO_2 . Czas trwania niedokrwienia wynosi zwykle 2–30 min. Uszkodzenie na poziomie tkankowym mierzy się na ogół liczbą zachowanych komórek piramidowych w hipokampie. Zmiany dotyczą przede wszystkim pola CA1, a przy cięższym uszkodzeniu także CA2, CA3 i zakrętu zębatego (Kitagawa i wsp., 1990). Aby ocenić zaburzenia zachowania się, określa się, jak długo zwierzęta umieszczone w nowym otoczeniu wykazują nadmierną ruchliwość i ile czasu zajmuje im przyzwyczajanie się do nowego środowiska. Zdrowym zwierzętom zajmuje to ok. 5 min (Wang, Corbett, 1990).

Zamknięcie dwóch naczyń (2VO, ang. two-Vessel Occlusion)

Polega na czasowym zamknięciu tętnic szyjnych wspólnych (zwykle u myszy i szczurów). Najczęściej połączone jest ono z jednoczesnym szybkim obniżeniem ciśnienia tętniczego krwi (zwykle do 50 mm Hg) przez upust krwi (Eklöf, Siesjö, 1972). Ma to na celu obniżenie mózgowego ciśnienia perfuzyjnego w celu wywołania hipoperfuzji przodomózgowia, gdyż koło tętnicze Willisa u tych dwóch gatunków jest całkowicie wykształcone. Pewną odmianą tej metody jest sekwencyjne zamykanie naczyń,

w czasie dwóch kolejnych zabiegów operacyjnych (Rodríguez i wsp., 2005). Podobnie jak w przypadku modelu niedokrwienia przodomózgowia u myszokoczek, uszkodzenie oceniane jest przede wszystkim w zakresie hipokampa, choć przy dłuższym trwającym niedokrwieniu zmiany widoczne są również w korze i prążkowi.

Zamknięcie czterech naczyń (4VO, ang. four-Vessel Occlusion)

Model ten pozostaje „złotym standardem” niedokrwienia globalnego. Jest wykonywany u myszy i szczurów, rzadko u psów. Zabiegi operacyjne przeprowadza się dwuetapowo. Podczas pierwszej operacji zamykane są trwale obie tętnice kręgowe (zwykle koagulowane), a następnie, po upływie jednego dnia, czasowo zamykane są obie tętnice szyjne. Uszkodzenie na poziomie tkankowym dotyczy tych samych struktur co w modelach poprzednich (Pulsinelli, Brierley, 1979; Pomfy, Franko, 1999).

Niedokrwienie ogniskowe

Jest najlepszym przybliżeniem udaru niedokrwinnego u człowieka. Niedokrwienie dotyczy określonego obszaru mózgu, odpowiadającego zwykle zakresowi unaczynienia danej tętnicy mózgowej, najczęściej tętnicy środkowej (przegl. Traystman, 2003; Carmichael, 2005).

Zamknięcie tętnicy środkowej mózgu (MCAo, ang. Middle Cerebral Artery occlusion)

Stosowanych jest kilka metod zamykania tętnicy środkowej mózgu pozwalających na czasowe albo trwałe przerwanie przepływu krwi. Poszczególne modyfikacje tego modelu umożliwiają wywoływanie niedokrwienia u różnych gatunków zwierząt, jak: myszy, szczury, koty, psy, małpy (też naczelnie). Zamknięcie tętnicy środkowej wykonywane jest albo z dostępu przezczaszkowego, albo za pomocą wewnątrznacyniowo wprowadzanej nici (ang. *thread model*). W pierwszym przypadku konieczne jest wykonanie kraniotomii i przecięcie opony twardej (Tamura i wsp., 1981; Backhauss i wsp., 1992). Tętnica może być zamykana w dowolnym miejscu. Najczęściej dotyczy to jej głównego pnia, ale możliwe jest też przerwanie przepływu krwi dystalnie do odejścia tętnicy soczewkowo-prążkowiowej, co powoduje powstanie czysto korowego zawału (Brint i wsp., 1988). Zamknięcie może być trwałe – zwykle poprzez koagulację naczyń – bądź czasowe – przez założenie mikrokłipsa naczyniowego czy uniesienie i ucisk tętnicy. Mniej inwazyjną metodą jest zamknięcie tętnicy środkowej w miejscu jej odejścia od tętnicy szyjnej wewnętrznej z dostępu wewnątrznacyniowego (Koizumi i wsp., 1986; Longa i wsp., 1989). W tym modelu zabieg operacyjny, również

przeprowadzany w znieczuleniu ogólnym, jest wykonywany w obrębie szyi i polega na wprowadzeniu nici nylonowej przez tętnicę szyjną zewnętrzną i opuszkę tętnicy szyjnej do tętnicy szyjnej wewnętrznej i dalej, w odcinku wewnątrczaszkowym, do jej podziału. Ponieważ nie wykonuje się kraniotomii, ta metoda niedokrwienia ogniskowego pozwala m.in. analizować naturalny przebieg wzrostu ciśnienia śródczaszkowego związanego z zawałem mózgu. Unika się też możliwych powikłań w postaci krwaka podoponowego. Istnieje kilka modyfikacji tego modelu, polegających głównie na różnym sposobie przygotowania filamentu służącego do zamykania światła naczyń (Belayev i wsp., 1996). Powtarzalność, jeżeli chodzi o wielkość otrzymywanego zawału mózgu, jest wysoka, choć – wg niektórych badaczy – istnieją dość znaczne różnice międzygatunkowe (Connolly i wsp., 1996; Prieto i wsp., 2005). Niemniej jednak ten model najwierniej, z istniejących sposobów, pozwala na wgląd w patofizjologię udaru niedokrwinnego mózgu.

Wstrzyknięcie endoteliny

W metodzie wykorzystuje się silnie wazokonstrykcyjne działanie endoteliny-1 (rzadziej endoteliny-3). Substancja jest podawana stereotaktycznie w bezpośrednie sąsiedztwo tętnicy środkowej mózgu. Powtarzalność tego modelu, jeśli chodzi o wielkość zawału, jest duża (Sharkey i wsp., 1993; Henshall i wsp., 1999). Zwykle dochodzi do pewnego stopnia spontanicznej reperfuzji, gdyż endotelina jest rozkładana przez endogenne peptydazy. Niemożliwe jest jednak precyzyjne przewidzenie czasu trwania krytycznego zmniejszenia przepływu krwi, co czyni tę metodę nieprzydatną w badaniach np. nad zjawiskiem hartowania przez niedokrwienie (ang. *ischemic preconditioning*).

Fototromboza

Jest to model trwałego niedokrwienia. Polega na podaniu dożylnym różu bengalskiego bądź erytrozyny B – barwników, które po pobudzeniu światłem lasera o określonej długości fali powodują uwalnianie wolnych rodników uszkadzających śródbłonek naczyń co, w konsekwencji, uruchamia kaskadę krzepnięcia, prowadząc do powstania skrzepliny (Watson i wsp., 1985; Wester i wsp., 1995). Metoda ta nie wymaga kraniotomii – wiązka światła przenika przez czaszkę na określonym obszarze. Zawał jest zlokalizowany głównie w korze. Dzięki stosowanym systemom chłodzącym nie dochodzi do termicznego uszkodzenia mózgu. Wielkość zawału jest determinowana przez średnicę wiązki światła, czas ekspozycji i dawkę podanego barwnika. Jest to wprawdzie mało inwazyjna metoda, ale relatywnie niewielka powtarzalność rozległości uszkodzenia czyni ją niezbyt przydatną w badaniach substancji potencjalnie neuroprotektoryjnych

czy neurotoksycznych. Ponadto wydaje się, że nie odzwierciedla zbyt dokładnie zakrzepowego mechanizmu udaru niedokrwiennego u ludzi (tempo powstawania skrzepliny jest zbyt gwałtowne).

Modele zatorowości

To kolejne próby znalezienia zwierzęcego modelu odpowiadającego udarowi zatorowemu u człowieka. Używa się w nich głównie skrzepliny, octanu poliwinylu oraz makro- bądź mikrosfer (średnica odpowiednio ok. 300–400 μm i 15–50 μm) (Overgaard i wsp., 1992; Demura i wsp., 1993; Yang i wsp., 2002; Gerriets i wsp., 2003).

Skrzeplina z krwi auto- bądź heterologicznej, przygotowana *in vitro*, podawana jest cewnikiem do tętnicy szyjnej wewnętrznej (zwykle na wysokości jej odejścia od tętnicy szyjnej wspólnej). Technicznie jest to metoda względnie prosta do wykonania. Istnieje jednak dość duży rozrzut wielkości i rozmiarów uszkodzenia pomiędzy poszczególnymi zwierzętami. Dodatkowo, biofizyczne właściwości skrzepliny przygotowanej *in vitro* różnią się od tej powstającej wewnątrznaczyniowo. Pewną odmianą tego modelu jest umieszczanie skrzepliny w określonej tętnicy wewnątrczaszkowej za pomocą kaniuli. Cewnik wypełniony trombiną umieszcza się w pobliżu odejścia tętnicy środkowej mózgu (operacja przebiega podobnie, jak w modelu z filamentem), a następnie zasysa się niewielką ilość krwi, miesza z trombiną i wypycha się skrzeplinę z kaniuli (Zhang i wsp., 1997). Budowa tak uzyskanej skrzepliny jest podobna do materiału zatorowego u ludzi.

Krwotok śródmózgowy

Istnieją dwie zasadnicze grupy modeli: a) wstrzykiwanie kolagenazy bakteryjnej i b) wprowadzanie krwi bezpośrednio do mózgu.

Kolagenazę bakteryjną (typ XI, VII) podaje się stereotaktycznie do prądkowia w kilkuminutowej infuzji (Rosenberg i wsp., 1990). Jest to relatywnie łatwa i powtarzalna metoda. Jednak reakcja zapalna związana z podaniem kolagenazy jest bardzo silnie wyrażona, a sam mechanizm powstawania krwotoku – odmienny niż u ludzi. Pewną modyfikacją tej metody, pozwalającą na użycie mniejszej dawki kolagenazy, jest jednocześnie domózgowe wstrzyknięcie heparyny (Del Bigio i wsp., 1996).

Drugim modelem jest domiąższowe wstrzykiwanie krwi (głównie u szczurów, myszy, królików, psów, świń). Iniekcja może być jednorazowa bądź wykonywana dwukrotnie, w odstępie kilkuminutowym (ang. *double-injection method*). Wstrzykiwana jest krew pełna, heparynizo-

wana albo nie, często pobrana z serca zwierzęcia-dawcy (Deinsberger i wsp., 1996; Wagner i wsp., 1996; Qureshi i wsp., 2001; Belayev i wsp., 2003). Według niektórych badaczy, wolniejsze podawanie krwi w drugim modelu jest bardziej zbliżone do patofizjologii krwotoku miąższowego w przebiegu nadciśnienia tętniczego u ludzi. W przypadkach wykorzystania krwi nieheparynizowanej obrzęk towarzyszący krwotokowi jest większy (Xi i wsp., 1998).

Opisane powyżej modele są niestety inwazyjne i wymagają wykonania znieczulenia ogólnego u zwierzęcia, co może wpływać na procesy patofizjologiczne zachodzące w mózgu. Pewnym modelem samoistnego krwotoku śródmózgowego są myszy transgeniczne mające zwiększoną ekspresję ludzkich genów dla reniny i angiotensynogenu. Przy zastosowaniu diety wysokosolnej zawierającej L-NAME (ester metylowy L ω -nitro-L-argininy, inhibitor syntazy tlenu azotu) zwierzęta te umierają w ciągu 10 tygodni, mając samoistne krwotoki śródmózgowe zlokalizowane w pniu mózgu, jąder podstawy oraz mózdzku, a więc tak, jak w przypadku krwotoków związanych z nadciśnieniem u ludzi (Lida i wsp., 2005).

Istnieją też zwierzęce modele krwotoków mózgowych w przebiegu angiopatii amyloidowej. Są to transgeniczne zwierzęta z wprowadzonym ludzkim genem dla prekursorowego białka amyloidu (myszy). Stwierdza się u nich obecność złogów amyloidu w naczyniach mózgowych, spontanicznych krwotoków korowych oraz mikrokrwotoków (Winkler i wsp., 2001).

Krwotok podpajęczynówkowy

Modele eksperymentalne *in vivo* krwotoku podpajęczynówkowego generalnie można podzielić na dwie duże grupy: a) przerwanie ciągłości naczynia wewnątrczaszkowego i b) wstrzyknięcie do przestrzeni podpajęczynówkowej krwi (przede wszystkim do zbiorników podstawy). Ten pierwszy model stosowany jest u małych zwierząt, ten drugi – także u większych (psy, króliki, koty, małpy).

Przerwanie ciągłości ściany tętnicy następuje przez przebicie ściany za pomocą ostro zakończonych nici nylonowej wprowadzanej wewnątrznaczyniowo, tak jak w modelu zamknięcia tętnicy środkowej mózgu za pomocą filamentu (*Sheffield model*). Podobnie jak u ludzi, dochodzi do gwałtownego wzrostu ciśnienia śródczaszkowego. Ponieważ w przypadku usunięcia nici i przywrócenia przepływu krwi w tętnicy szyjnej wewnętrznej po stronie uszkodzenia, w ciągu 3 godz. śmiertelność wśród zwierząt wynosi 100%, dla zwiększenia przeżycia albo usuwa się filament i pozostawia zamkniętą tętnicę szyjną wewnętrzną, albo pozostawia się nią w tętnicy środkowej

mózgu (Veelken i wsp., 1995). Rzadko stosowaną metodą jest nakłucie tętnicy podstawnej wymagające kraniektomii (Kader i wsp., 1990).

Z kolei autologiczną krew do przestrzeni podpajęczynówkowej wprowadza się zwykle do zbiornika wielkiego (*cisterna magna*) albo – rzadko – zbiornika przedskrzyżowania (ang. *prechiasmatic cistern*). W przypadku zwierząt większych częściej stosowane jest dwukrotne wykonanie iniekcji w odstępie dwóch dni (Varsos i wsp., 1983; Chan i wsp., 1984; Solomon i wsp., 1985; Sahlin i wsp., 1987; Prunell i wsp., 2002; Lin i wsp., 2003).

Piśmiennictwo

- Backhauss C., Karkoutly C., Welsch M., Krieglestein J. (1992), *A mouse model of focal cerebral ischaemia for screening neuroprotective drug effects*. J. Pharmacol. Toxicol. Methods, 27, 27–32.
- Belayev L., Alonso O.F., Busto R., Zhao W., Ginsberg M.D. (1996), *Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture: neurological and pathological evaluation of an improved model*. Stroke, 27, 1616–1623.
- Belayev L., Saul I., Curbelo K., Busto R., Belayev A., Zhang Y., Riyamongkol P., Zhao W., Ginsberg M.D. (2003), *Experimental intracerebral hemorrhage in the mouse: histological, behavioral, and hemodynamic characterization of a double-injection model*. Stroke, 34, 2221–2227.
- Brint S., Jacewicz M., Kiessling M., Tanabe J., Pulsinelli W. (1988), *Focal brain ischemia in the rat: methods for reproducible neocortical infarction using tandem occlusion of the distal middle cerebral and ipsilateral common carotid arteries*. J. Cereb. Blood. Flow Metab., 8, 474–485.
- Campbell C.A., Hunter A.J. (1999), *Preclinical model of stroke [w:] Stroke Therapy: Basics, Preclinical, and Clinical Directions*. Miller L.P. (ed.), Wiley-Liss, Inc.
- Carmichael S.T. (2005), *Rodent models of focal stroke: size, mechanism, and purpose*. NeuroRx, 2, 396–409.
- Chan R.C., Durity F.A., Thompson G.B., Nugent R.A., Kendall M. (1984), *The role of the prostacyclin-thromboxane system in cerebral vasospasm following induced subarachnoid hemorrhage in the rabbit*. J. Neurosurg., 61, 1120–1128.
- Connolly E.S. Jr, Winfree C.J., Stern D.M., Solomon R.A., Pinsky D.J. (1996), *Procedural and strain-related variables significantly affect outcome in a murine model of focal cerebral ischemia*. Neurosurgery, 38, 523–531.
- Deinsberger W., Vogel J., Kuschinsky W., Auer L.M., Boker D. (1996), *Experimental intracerebral hemorrhage: description of a double injection model in rats*. Neurol. Res., 18, 475–477.
- Del Bigio M.R., Yan H.-J., Buist R., Peeling J. (1996), *Experimental hemorrhage in rats: magnetic resonance imaging and histopathological correlates*. Stroke, 27, 2312–2320.
- Demura N., Mizukawa K., Ogawa N., Yamashita K., Kanazawa I. (1993), *A cerebral ischemia model produced by injection of microspheres via the external carotid artery in freely moving rats*. Neurosci. Res., 17, 23–30.
- Dong W.Q., Schurr A., Reid K.H., Shields C.B., West C.A. (1988), *The rat hippocampal slice preparation as an in vitro model of ischaemia*. Stroke, 19, 498–502.
- Eklöf B., Siesjö B.K. (1972), *The effect of bilateral carotid artery ligation upon the blood flow and energy state of the rat brain*. Acta Physiol. Scand., 86, 155–165.
- Gerriets T., Li F., Silva M.D., Meng X., Brevard M., Sotak C.H., Fisher M. (2003), *The macrosphere model: evaluation of a new stroke model for permanent middle cerebral artery occlusion in rats*. J. Neurosci. Methods, 122, 201–211.
- Goldberg M.P., Choi D.W. (1993), *Combined oxygen and glucose deprivation in cortical cell culture: calcium-dependent and calcium-independent mechanisms of neuronal injury*. J. Neurosci., 13, 3510–3524.
- Henshall D.C., Butcher S.P., Sharkey J. (1999), *A rat model of endothelin-3-induced middle cerebral artery occlusion with controlled reperfusion*. Brain Res., 843, 105–111.
- Iida S., Baumbach G.L., Lavoie J.L., Faraci F.M., Sigmund C.D., Heistad D.D. (2005), *Spontaneous stroke in a genetic model of hypertension in mice*. Stroke, 36, 1253–1258.
- Kader A., Krauss W.E., Onesti S.T., Elliott J.P., Solomon R.A. (1990), *Chronic cerebral blood flow changes following experimental subarachnoid hemorrhage in rats*. Stroke, 21, 577–581.
- Kitagawa K., Matsumoto M., Tagaya M., Hata R., Ueda H., Ninobe M., Handa N., Fukunaga R., Kimura K., Mikoshiba K., Kamada T. (1990), *'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain*. Brain Res., 528, 21–24.
- Kofler J., Hattori K., Sawada M., DeVries A.C., Martin L.J., Hurn P.D., Traystman R.J. (2004), *Histopathological and behavioral characterization of a novel model of cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in mice*. J. Neurosci. Methods, 136, 33–44.
- Koizumi J., Yoshida Y., Nakazawa T., Ooneda G. (1986), *Experimental studies of ischemic brain edema: a new experimental model for cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischaemic area*. Jpn J. Stroke, 8, 1–8.
- Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tel' L.Z. (1982), *Modeling clinical death and postresuscitation disease in rats*. Patol. Fiziol. Eksp. Ter., 3, 78–80.
- Laidley D.T., Colbourne F. (2005), *Corbett D: Increased behavioral and histological variability arising from changes in cerebrovascular anatomy of the Mongolian gerbil*. Curr. Neurovasc. Res., 2, 401–407.
- Lin C.-L., Calisanello T., Ukita N., Dumont A.S., Kassell N.F., Lee K.S. (2003), *A murine model of subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm*. J. Neurosci. Methods, 123, 89–97.
- Longa E.Z., Weinstein P.R., Carlson S., Cummins (1989), *Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats*. Stroke, 20, 84–91.
- Mossakowski M.J., Hilgier W., Januszewski S. (1986), *Evaluation of morphologic changes in the central nervous system in experimental post-resuscitation syndrome. Preliminary report*. Neuropatol. Pol., 24, 471–489.
- Nabika T., Cui Z.H., Masuda J. (2004), *The stroke-prone spontaneously hypertensive rat: how good is it as a model for cerebrovascular diseases?* Cell Mol. Neurobiol., 24, 639–646.
- Overgaard K., Sereghy T., Boysen G., Pedersen H., Hoyer S., Diemer N.H. (1992), *A rat model of reproducible cerebral infarction using thrombotic blood clot emboli*. J. Cereb. Blood Flow Metab., 12, 484–490.

- Pomfy M., Franko J. (1999), *Validation of a four-vessel occlusion model for transient global cerebral ischemia in dogs*. J. Hirnforsch., 39, 465–471.
- Prieto R., Carceller F., Roda J.M., Avendano C. (2005), *The intraluminal thread model revised: rat strain differences in local cerebral blood flow*. Neurol. Res., 27, 47–52.
- Prunell G.F., Mathiesen T., Svengaard N.A. (2002), *A new experimental model in rats for study of the pathophysiology of subarachnoid hemorrhage*. Neuroreport, 13, 2553–2556.
- Pulsinelli W.A., Brierley J.B. (1979), *A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat*. Stroke, 10, 269–272.
- Qureshi A.I., Ling G.S., Khan J., Suri M.F., Miskolczi L., Guterman L.R., Hopkins L.N. (2001), *Quantitative analysis of injured, necrotic, and apoptotic cells in a new experimental model of intracerebral hemorrhage*. Crit. Care Med., 29, 152–257.
- Rodriguez R., Santiago-Meija J., Gomez C., San-Juan E.R. (2005), *A simplified procedure for the quantitative measurement of neurological deficits after forebrain ischemia in mice*. J. Neurosci. Methods, 147, 22–28.
- Rosenberg G.A., Mun-Bryce S., Wesley M., Kornfeld M. (1990), *Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats*. Stroke, 21, 801–807.
- Sahlin C., Brismar J., Delgado T., Owman C., Salford L.G., Svenngaard N.A. (1987), *Cerebrovascular and metabolic changes during delayed vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage in baboons, and treatment with a calcium antagonist*. Brain Res., 403, 313–332.
- Sharkey J., Ritchie I.M., Kelly P.A. (1993), *Perivascular microapplication of endothelin-1: a new model of focal cerebral ischaemia in the rat*. J. Cereb. Blood Flow Metab., 13, 865–871.
- Solomon R.A., Antunes J.L., Chen R.Y., Bland L., Chien S. (1985), *Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: a new animal model*. Stroke, 16, 58–64.
- Tamura A., Graham D.I., McCulloch J., Teasdale G.M. (1981), *Focal cerebral ischaemia in the rat: I. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion*. J. Cereb. Blood Flow Metab., 1, 53–60.
- Traystman R.J. (2003), *Animal models of focal and global cerebral ischemia*. ILAR J., 44, 85–95.
- Varsos V.G., Liszczak T.M., Han D.H., Kistler J.P., Vielma J., Black P.M., Heros R.C., Zervas N.T. (1983), *Delayed vasospasm is not reversible by aminophylline, nifedipine, or papaverine in a 'two-hemorrhage' canine model*. J. Neurosurg., 58, 11–17.
- Veelken J.A., Laing R.J.C., Jakubowski J. (1995), *The Sheffield model of subarachnoid hemorrhage in rats*. Stroke, 26, 1279–1284.
- Wagner K.R., Xi G., Hua Y., Kleinholz M., de Courten-Myers G.M., Myers R.E., Broderick J.P., Brott T.G. (1996), *Lobar intracerebral hemorrhage model in pigs: rapid edema development in perihematomal white matter*. Stroke, 27, 490–497.
- Wang D., Corbett D. (1990), *Cerebral ischaemia, locomotor activity and spatial mapping*. Brain Res., 533, 78–82.
- Watson B.D., Dietrich W.D., Busto R., Wachtel M.S., Ginsberg M.D. (1985), *Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis*. Ann. Neurol., 17, 497–504.
- Wester P., Watson B.D., Prado R., Dietrich W.D. (1995), *A photothrombotic 'ring' model of rat stroke-in-evolution displaying putative penumbral inversion*. Stroke, 26, 444–450.
- Winkler D.T., Bondolfi L., Herzig M.C., Jann L., Calhoun M.E., Wiederhold K.-H., Tolnay M., Staufenbiel M., Jucker M. (2001), *Spontaneous hemorrhagic stroke in a mouse model of cerebral amyloid angiopathy*. J. Neurosci., 21, 1619–1627.
- Xi G., Wagner K.R., Keep R.F., Hua Y., de Courten-Myers G.M., Broderick J.P., Brott T.G., Hoff J.T. (1998), *Role of blood clot formation on early edema development after experimental intracerebral hemorrhage*. Stroke, 29, 2580–2586.
- Yang Y., Yang T., Li Q., Wang C.X., Shuaib A. (2002), *A new reproducible focal cerebral ischemia model by introduction of polyvinylsiloxane into the middle cerebral artery: a comparison study*. J. Neurosci. Methods, 118, 199–206.
- Zhang Z., Zhang R.L., Jiang Q., Raman S.B., Cantwell L., Chopp M. (1997), *A new model of thrombotic focal cerebral ischemia*. J. Cereb. Blood Flow Metab., 17, 123–135.